

## تغییرات ریخت شناسی سلول های غنی از میتوکندری در آبشش ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) طی سازش با شوری های مختلف محیطی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره

هاجر پاپی، رحیم عبدی<sup>۱\*</sup>، عبدالعلی موحدی نیا

گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۹

### چکیده

جهت تعیین تغییرات و سازش های سلولی در سطح سلول های غنی از میتوکندری تحت تاثیر شوری های مختلف محیطی، ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) به عنوان یک گونه یوری هالین مورد مطالعه قرار گرفته است. برای انجام پروژه، ۱۸۰ عدد ماهی صبیتی در محدوده وزنی  $0.5 \pm 150$  گرم و طول حدود  $1 \pm 23$  سانتیمتر به مدت یک هفته در مواجهه مستقیم با شوری های ۵، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ ppt قرار داده شدند. نمونه برداری در روز های ۲، ۱ و ۷ صورت گرفت که به طور همزمان و ۳ ماهی از هر تانک (۱۲ ماهی از هر تیمار) در هر بار انجام شد. نمونه های مورد نظر پس از تهیه، در محلول گلو تار آلدهید ۲/۵٪ تثبیت شده و پس از خارج نمودن از محلول ثبوت با بافر فسفات ۰/۱M (pH=۷/۴) شستشو، سپس نمونه ها در سری های افزایشی اتانل (از ۵۰٪ تا اتانل خالص) و سپس استن ۱۰۰٪ آب گیری شدند؛ در ادامه قطعات بافتی به وسیله نیتروژن مایع سریعاً منجمد شده، سپس تحت میکروسکوپ الکترونی نگاره LEO (مدل 1455VP) با ولتاژ ۱۵Kv بررسی شدند. مطالعه سطح فوقانی سلول های غنی از میتوکندری تحت میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داد که براساس ساختار دهانه های راسی، سه نوع سلول غنی از میتوکندری با دهانه های برآمده، کم عمق و عمیق قابل تشخیص است. تعداد و اندازه دهانه های راسی سلول های غنی از میتوکندری در شوری ۶۰ ppt در روز نخست در مقایسه با بقیه تیمارها افزایش یافت. در طول دوره آزمایش تراکم و اندازه دهانه های سلول های غنی از میتوکندری در شوری های پایین تر از آب دریا روند افزایشی داشت در صورتی که در شوری بالاتر از آب دریا اندازه و تراکم دهانه ها در طول دوره روند کاهشی را نشان داد.

**واژگان کلیدی:** سلول های غنی از میتوکندری، میکروسکوپ الکترونی نگاره، ماهی صبیتی، شوری

\*نویسنده مسوول، پست الکترونیک: [abdir@kmsu.ac.ir](mailto:abdir@kmsu.ac.ir)

## ۱. مقدمه

سازگاری با شوری های مختلف در داخل کشور این تحقیق یک مطالعه جامع در رابطه با اثر شوری های مختلف روی مکانیسم های تنظیم اسمزی و به خصوص تغییرات فیزیولوژیک سلول های غنی از میتوکندری آبشش با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی باشد. هدف از انجام این تحقیق بررسی تغییرات احتمالی ایجاد شده در غشای رأسی سلول های غنی از میتوکندری و سلول های پوششی سنگفرشی طی سازش با شوری های مختلف تحت میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) بوده است.

## ۲. مواد و روش ها

برای انجام پروژه ۱۸۰ عدد ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) در محدوده وزنی  $0.5 \pm 150$  گرم و طول حدود  $1 \pm 23$  سانتیمتر از تکثیر مولدین در ایستگاه تحقیقاتی بندر امام خمینی (ره) استفاده شد. ماهی های صبیتی به صورت تصادفی در ۱۲ تانک ۳۰۰ لیتری (۱۵ عدد ماهی در هر تانک) قرار داده شدند. شرایط محیطی شامل دما و نور در طول پروژه برای تمامی تانک ها یک نواخت بود. در طول مدت آزمایش، سنجش خصوصیات فیزیوشیمیایی آب از قبیل شوری، دما، pH و اکسیژن محلول به طور روزانه اندازه گیری می شد. برای تغذیه ماهی ها در طول دوره سازگاری و طی انجام پروژه از بیومار استفاده شد؛ ترکیب این غذا شامل ۴۳٪ پروتئین، ۱۸٪ چربی، ۳۰٪ کربوهیدرات، ۹٪ فیبر بود. غذاهای ماهی در دو نوبت صبح و بعد از ظهر انجام شد. تعویض آب تانک ها به صورت روزانه و پس از اتمام تغذیه جهت جلوگیری از افزایش آمونیاک و متابولیت های دیگر انجام شد (Altinok et al., 1998). شوری های مورد آزمایش ppt ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۵ بودند (Wang et al., 2009). طول دوره آزمایش ۷ روز برای بررسی تغییرات بافتی آبشش ماهی طراحی شد و پس از یک هفته سازگاری ماهی به تانک هایی با شوری مشخص انتقال داده شدند. نمونه برداری از ماهیان در ۳ مرحله در روز ۱، روز ۲ و روز ۷ به صورت

ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta*) از خانواده ی شانک ماهیان (*Sparidae*) است که از گونه های مهم و تجاری خلیج فارس محسوب می شود (Tng et al., 1999). همه ی گونه های این خانواده دریایی بوده و غالباً ساکن آب های گرم هستند (Platell et al., 2007). این ماهیان در مقایسه با سایر ماهیان دریایی دامنه وسیعی از شوری های محیطی را می توانند تحمل کنند. از آنجا که این ماهی ها طی مهاجرت های خود توانایی بالا در مقابله با شوری محیطی دارند و از طرفی چون هیچ گونه وابستگی به محیط آب شیرین در طی مراحل زندگی خود ندارند، به عنوان ماهیان دریایی حقیقی دانسته می شوند (Kelly et al., 1999a). در ماهیان استخوانی وظیفه تنظیم اسمزی و تنظیم یونی بر عهده مجموعه ای از اندام ها از جمله آبشش، کلیه، روده و پوست است (Lee et al., 2006). از این میان، آبشش نقش حیاتی در تنظیم آب و وضعیت الکترولیت در ماهی ها دارد. آبشش در ماهیان نقش های مختلفی از جمله تبادل گازی در محیط آبی، تنظیم یونی، تنظیم اسید - باز و دفع مواد زائد نیتروژنی ایفا می کند (Evans et al., 2005). سلول های غنی از میتوکندری از سلول های مهم در تنظیم اسمزی هستند، که این سلول ها در آبشش، تبادل و دفع یون ها در محیط هیپراسموتیک و جذب یون ها در محیط هیپواسموتیک را بر عهده دارند (Chang et al., 2001). از آنجا که در این پژوهش آبشش ماهی به عنوان ارگان اصلی در تنظیم یونی و تنظیم اسمزی ماهی ها مورد بررسی قرار گرفته است، این پژوهش به صورت بالقوه واجد جنبه های علمی و اولویت تحقیقاتی است، به خصوص آنکه در این مورد یکی از ماهی های بومی خلیج فارس مورد مطالعه گرفته است که با توجه به ارزش و اهمیت غذایی و اقتصادی ماهی صبیتی و عدم انجام مطالعات فراساختاری سلول های کلراید در آبشش این ماهی در پی

### ۳. نتایج

#### مرفولوژی دهانه‌های راسی سلول های غنی از

#### میتوکندری طی سازش با شوری های مختلف

غشای راسی سلول های غنی از میتوکندری آبشش ماهی صیبتی، مرفولوژی متفاوتی از انواع دهانه‌های راسی سلول های غنی از میتوکندری شامل فرورفتگی های عمیق<sup>۱</sup>، کم عمق<sup>۲</sup> و برآمده<sup>۳</sup> را نشان داد (شکل ۱). در آبشش ماهیان سازش یافته با شوری ۵ppt تمام فرم های ساختار راسی سلول های غنی از میتوکندری (هر ۳ نوع) مشاهده شد (شکل ۴-F). در شوری ۲۰ppt در روز های ابتدایی (روز اول و دوم)، نیز هر ۳ نوع سلول های غنی از میتوکندری مشاهده شد (شکل ۳-D). ولی در روز ۷، دهانه راسی سلول های غنی از میتوکندری بیشتر شامل نوع عمیق بود (شکل ۴-E) در حالی که MRC های با دهانه‌های کم عمق در همین تیمار در روزهای نخست کمتر شده بود. در شوری ۴۰ppt سلول های غنی از میتوکندری تقریباً از نوع MRC با دهانه های کم عمق مشاهده شد و ساختار راسی با دهانه عمیق خیلی کم مشاهده شد (شکل ۲). در شوری ۶۰ppt در روزهای ابتدایی (روز اول و دوم) در روی فیلامنت، سلول های غنی از میتوکندری ساختاری راسی با دهانه های کم عمق نشان دادند و دهانه های عمیق کمتر به چشم می‌خورد (شکل ۳-A,B) در حالی که در روز ۷، در همین تیمار MRC های با دهانه های کم عمق کمتر مشاهده شد ولی حضور سلول های غنی از میتوکندری با دهانه های راسی عمیق بیشتر قابل مشاهده بود (شکل ۳-C).

#### تغییرات مساحت دهانه های راسی سلول های

#### غنی از میتوکندری طی سازش با شوری های

#### مختلف

همزمان و ۱ ماهی ازهرتانک (۳ ماهی از هر تیمار) در هر بار نمونه‌برداری انجام شد (Wang et al., 2009). ماهیان پس از صید، بلافاصله جهت کاهش اثرات عوامل استرس‌زا، در داخل تشت‌های پلاستیکی محتوی یکی از شوری های مورد آزمایش که به وسیله‌ی دوز ۰.۱٪، ۲-فنوکسی اتانل برای بیهوشی ماهیان آماده شده بودند بیهوش شدند. سپس قسمتی از آبشش ها (یک سانتی متر مکعب) جداسازی و در گلوآرآلدئید ۲/۵٪ تثبیت شده و پس از خارج نمودن از محلول ثبوت با بافر فسفات ۰/۱M (pH=۷/۴) شستشو داده شدند، سپس نمونه ها در سری‌های افزایشی اتانل (از ۵۰٪ تا اتانل خالص) و سپس استن ۱۰۰٪ آب‌گیری شدند. در ادامه قطعات بافتی بوسیله نیتروژن مایع سریعاً منجمد و با استفاده از چسب غیررسانای دوطرفه به گونه‌ای روی پایه‌های مسی قرار داده شدند که کمان‌آبششی عمود بر پایه و سطح رشته آبششی افقی قرار گیرد. نمونه‌ها در دستگاه Edwards sputter coater مدل SC7620 کاملاً خشک و با طلا روکش شدند. نمونه‌ها پس از این مراحل آماده سازی، تحت میکروسکوپ الکترونی نگاره LEO (مدل 1455VP) با ولتاژ ۱۵Kv بررسی شدند. تصاویر میکروسکوپی با بزرگنمایی ۱۰۰۰ و ۵۰۰ از ۴ منطقه از سطح آوران فیلامنت، نزدیک به محل اتصال فیلامنت به کمان‌آبششی از هر ماهی تهیه و جهت بررسی‌های بعدی ذخیره شد. تعداد و مساحت دهانه‌های سلول‌های غنی از میتوکندری در ۱۰ تصویربرداری از ۴ ماهی برای هر تیمار با استفاده از Image tools تصاویر تهیه شده با استفاده از نرم افزار Image tools 3.00 شمارش شد. جهت حذف قسمت‌های غیر از لبه آوران فیلامنت در تصاویر، نواحی آوران به‌صورت مستطیل با مساحت ۰/۰۰۳۸۴ تا ۰/۰۳۶۵۵ میلی‌مترمربع برش داده‌شد. تراکم دهانه‌های مورد نظر (تعداد در میلی‌مترمربع) در هر تصویر با توجه به مساحت همان تصویر، و همچنین مساحت دهانه‌ها محاسبه و میانگین آن برای هر ماهی به‌دست آمد (Movahedinia et al., 2009).

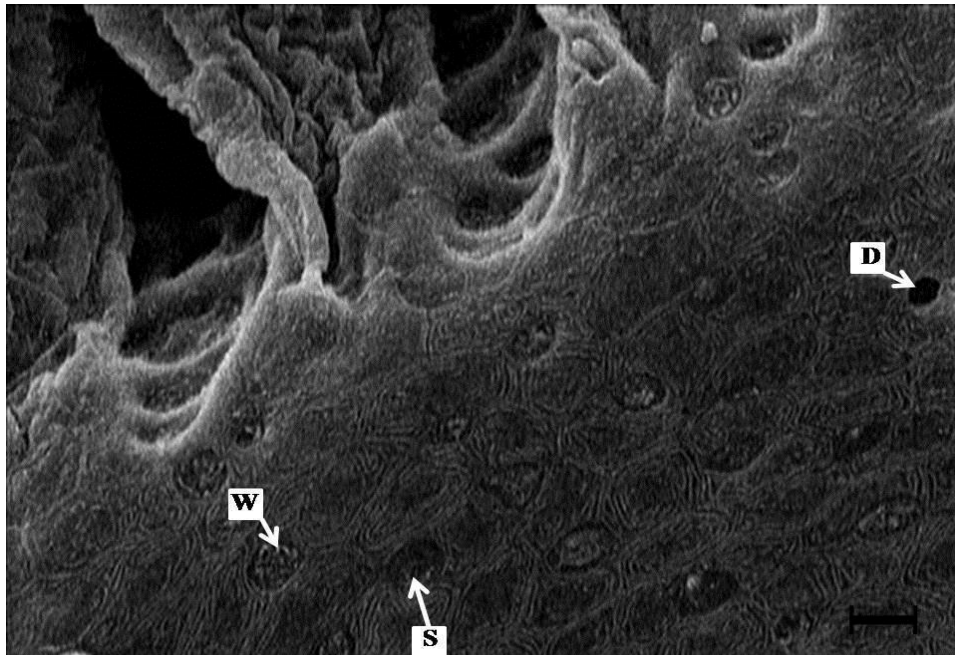
<sup>1</sup>Deep hole

<sup>2</sup>Shallow basin

<sup>3</sup>Wavy convex

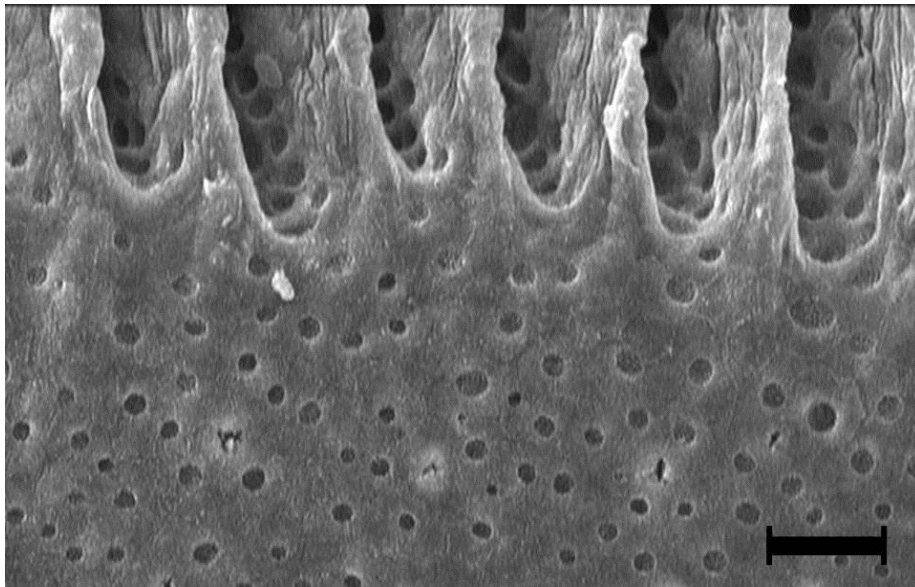
مختلف نمونه برداری هیچ گونه تغییر معنی داری مشاهده نشد.

در بررسی مساحت دهانه های راسی MRC ها در طول دوره در شوری ppt ۴۰ (تیمار کنترل) در زمان های

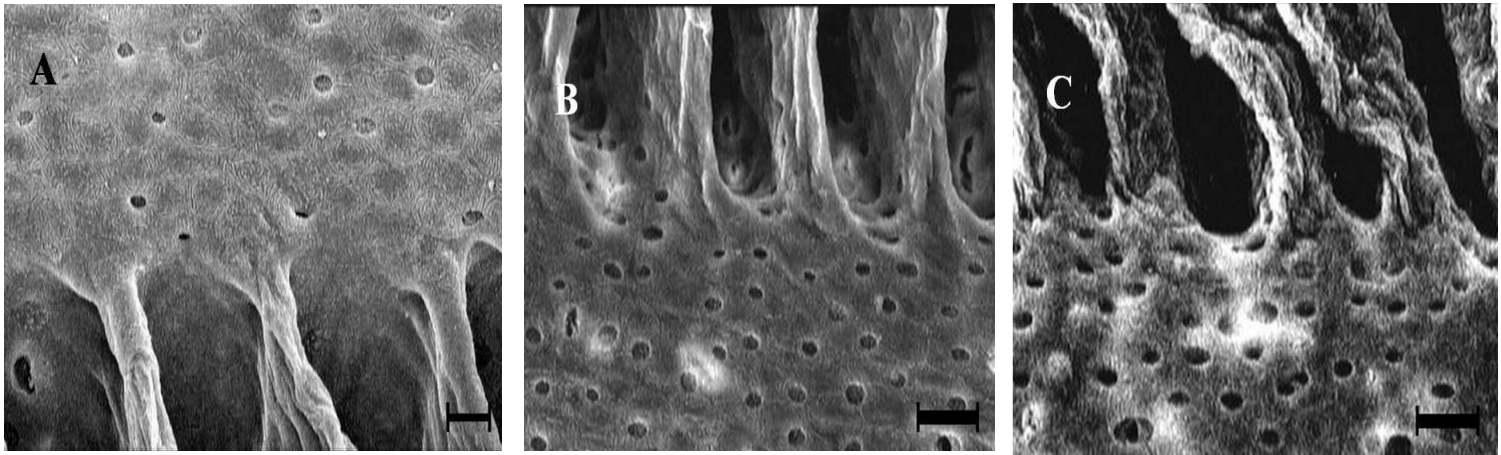


شکل ۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره انواع مختلف سلول های غنی از میتوکندری (براساس مورفولوژی ناحیه ی راسی) در اپیتلیوم آبشش ماهی صبیتی. D: دارای دهانه ی فرورفته و عمیق (Deep hole MRCs)، S: دارای دهانه ی کم عمق (Shallow basin MRCs) و W: دارای دهانه های هم سطح با سلول های سنگفرشی با اندکی برآمده تر از آن (Wavy convex MRCs). مقیاس

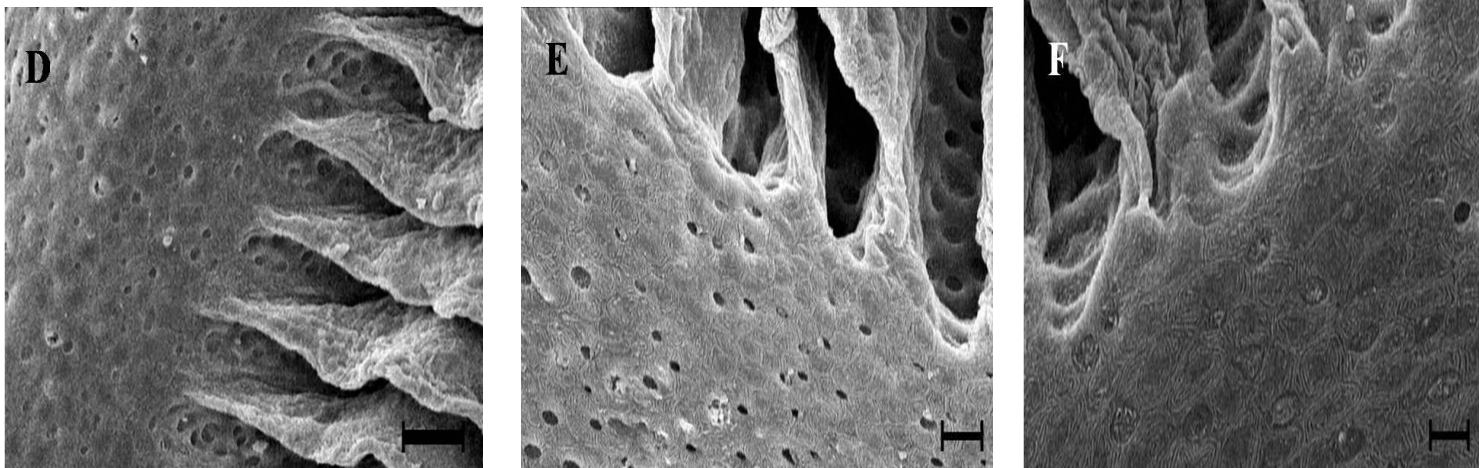
$20 = \mu\text{m}$



شکل ۲. تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از سطح آوران و قسمتی از فضای بین لاملایی آبشش ماهی صبیتی در شرایط آب دریا (ppt ۴۰). مقیاس  $50 = \mu\text{m}$



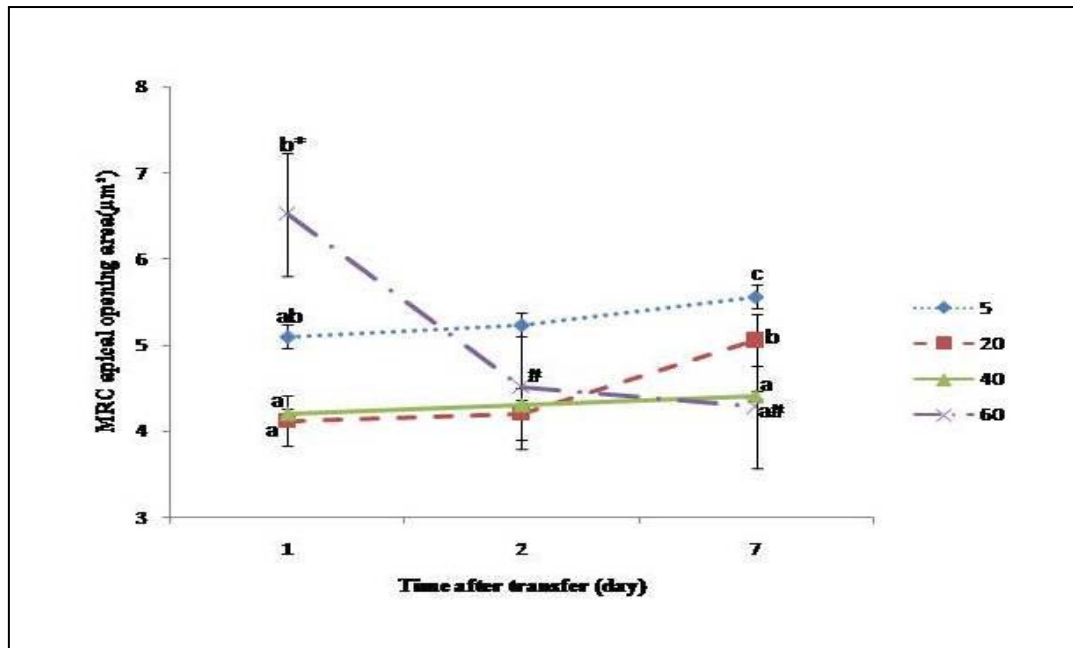
شکل ۳. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از سطح اپیتلیوم فیلامنت آبشش ماهی صبیتی در سازش با شوری های مختلف محیطی (۶۰ ppt، ۲۰ ppt و ۵ ppt). تصاویر، ویژگی ها و تغییرات مورفولوژی راسی سلول های غنی از میتوکندری طی سازش با ۶۰ ppt پس از ۲۴ ساعت، ۲ روز و ۷ روز (به ترتیب A, B, C) را نشان می دهند. مقیاس (C, B) = ۵۰  $\mu\text{m}$  و مقیاس (A) = ۲  $\mu\text{m}$



شکل ۴. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از سطح اپیتلیوم فیلامنت آبشش ماهی صبیتی در سازش با شوری های مختلف محیطی (۶۰ ppt، ۲۰ ppt و ۵ ppt). تصاویر، ویژگی ها و تغییرات مورفولوژی راسی سلول های غنی از میتوکندری طی سازش با ۲۰ ppt پس از ۲۴ ساعت (D, E) و همچنین طی سازش با ۵ ppt پس از ۲۴ ساعت (F) را نشان می دهند. مقیاس (D) = ۵۰  $\mu\text{m}$  و مقیاس (E, F) = ۲۰  $\mu\text{m}$

نداشت. پس از ۲ روز، هیچ گونه تفاوت معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد. در روز ۷، هر کدام از تیمارهای ۲۰ ppt و ۵ ppt نسبت به تیمار ۶۰ ppt افزایش معنی داری نشان داد. همچنین بین تیمارهای ۲۰ ppt و ۵ ppt اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $P < 0/05$ ).

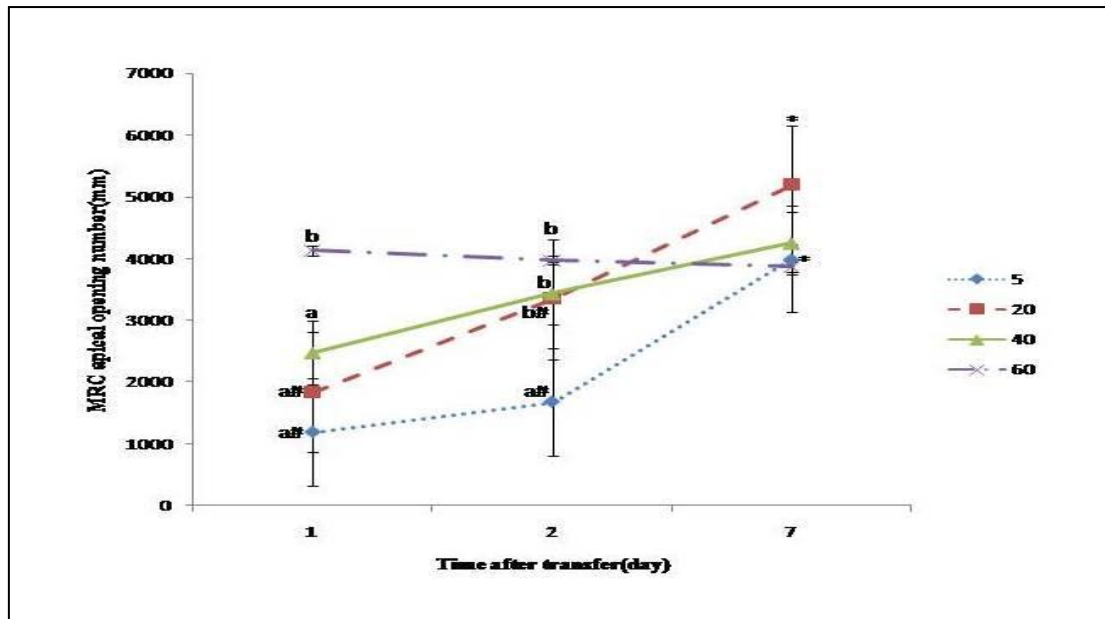
پس از ۲۴ ساعت قرارگیری ماهی در معرض شوری های مختلف، مساحت دهانه های راسی سلول های غنی از میتوکندری تیمارهای ۲۰ ppt و ۵ ppt نسبت به تیمارهای ۶۰ ppt کاهش معنی دار نشان داد ( $P < 0/05$ )، این در حالی بود که در همین زمان بین تیمارهای ۲۰ ppt و ۵ ppt اختلاف معنی داری وجود



نمودار ۱. نمودار مقایسه مساحت دهانه های راسی سلول های غنی از میتوکندری ( $\mu\text{m}^2$ ) در ماهی صیبتی (*Sparidentex hasta*) تحت شوری های متفاوت محیطی در زمان های مختلف نمونه برداری. حروف متفاوت (a,b,c) نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در هر زمان است. \*, #, + نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در هر تیمار در روزهای مختلف است.

تعداد دهانه های سلول های غنی از میتوکندری افزایش معنی دار نشان داد ( $P < 0/05$ ). در مورد شوری ۴۰ ppt (شوری شاهد) هیچ گونه اختلاف معنی داری بین داده ها برقرار نبود. بررسی تراکم دهانه های راسی سلول های غنی از میتوکندری طی سازش با شوری های مختلف در پایان دوره (روز ۷) فاقد اختلاف معنی داری بود ( $P > 0/05$ ).

تراکم دهانه های راسی سلول های غنی از میتوکندری طی سازش با شوری های مختلف پس از ۲۴ ساعت، تعداد تراکم دهانه های راسی سلول های غنی از میتوکندری تیمار ۵ ppt و ۲۰ ppt نسبت به تیمار ۶۰ ppt کاهش معنی دار نشان داد در صورتی که در همین زمان بین تیمارهای ۵ ppt و ۲۰ ppt اختلاف معنی داری مشاهده نشد. پس از ۲ روز، در تیمارهای ۲۰ ppt و ۶۰ ppt نسبت به تیمار ۵ ppt



نمودار ۲. نمودار مقایسه تراکم دهانه های سلول های غنی از میتوکندری ( $\text{mm}^2$ ) در ماهی صیبتی *Sparidentex hasta* تحت شوری های متفاوت محیطی در زمان های مختلف نمونه برداری. حروف متفاوت (a,b,c) نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارهای مختلف در هر زمان است. \*، #، + نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در هر تیمار در روزهای مختلف است.

افزایش معنی داری نشان داد و مساحت این دهانه ها در این تیمار نسبت بقیه تیمارها افزایش چشم گیری نشان داد که این تراکم و مساحت در پایان دوره کاهش یافت. محققین تغییر در تعداد و مساحت سلول های مذکور را به دلیل قرار گیری در محیط با شوری بالا و افزایش فعالیت آنها جهت دفع یون های اضافی سدیم و کلر ذکر کردند (Pisam et al., 1990). بطور مشابهی موحدی نیا (۱۳۸۸) با پژوهش بروی MRC های فیلامنتی ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) این نتایج را گزارش کرده است. اما برخلاف آنچه در ماهی شانک زرد باله مبنی بر عدم وجود سلول های غنی از میتوکندری با سطح راسی عمیق پس از سازش با شوری ۶۰ppt گزارش شده است. در این پژوهش در روزهای پایانی سازش با شوری ۶۰ppt سطح راسی سلول های غنی از میتوکندری بیشتر از نوع دهانه های با عمیق بیشتر قابل مشاهده بود که به دلیل تطابق دادن این سلول جهت دفع نمک اضافی و در مدت زمان طولانی بوده است. همچنین Kelly و همکاران (۱۹۹۹) با تحقیقی

#### ۴. بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه با توجه به نتایج و همچنین مطالعه موحدی نیا (۱۳۸۸)، Lin و همکاران (۲۰۰۴)، Evans و همکاران (۲۰۰۵) و Wong و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از تصاویر میکروسکوپ الکترونی نگاره در بررسی فراساختار سطح راسی سلول های غنی از میتوکندری، ۳ نوع MRC (دارای دهانه برآمده، کم عمق یا عمیق) شناسایی شد. در فیلامنت آبشش ماهی صیبتی، در مواجهه با تغییرات ناگهانی شوری، سلول های غنی از میتوکندری پاسخ های سریعی داشته اند. پس از ۲۴ ساعت، تغییرات قابل ملاحظه ای در فراساختار، تراکم و مساحت دهانه راسی سلول های غنی از میتوکندری ایجاد شد. مشابه چنین تغییری در ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) و ماهی شانک نقره ای (*Sparus sarba*) نیز گزارش شده است (Movahedinia et al., 2009; Kelly et al., 1999). یک روز بعد از قرار گرفتن در شوری ۶۰ppt، تعداد دهانه های راسی MRC ها نسبت به بقیه تیمارها

بروی شانک سیاه (*Mylio macrocephalus*) انجام دادند به این نتیجه رسیدند در آب شیرین نیز انواع سلول های غنی از میتوکندری با دهانه های برآمده، کم عمق و عمیق قابل مشاهده است. در پژوهشی که Wang و همکاران (۲۰۰۹) بر آبشش ماهی تیلپیا (*Oreochromis mossambicus*) به انواع شوک های هیپراسموتیک شامل آب لب شور و آب دریا انجام دادند، تراکم دهانه های راسی سلول های غنی از میتوکندری در آبشش تیلپیا ۳ ساعت پس از انتقال به آب لب شور کاهش معنی داری نشان داد که علت کاهش، ناپدید شدن حفره های برآمده بود اما بعد از ۴۸ ساعت تراکم دهانه های راسی سلول های غنی از میتوکندری افزایش یافت که علت آن، افزایش در تراکم حفره های عمیق بود. تغییر در تعداد و مساحت دهانه های سلول های غنی از میتوکندری اغلب در ارتباط با تغییر یون های  $Na^+$  و  $Cl^-$  می تواند باشد (Perry and Laurent, 1989; Goss et al., 1992). تغییرات مساحت های دهانه های MRC ها می تواند از افزایش یا تغییر تبادلات یونی محیط های هیپوسموتیک و هیپراسموتیک باشد. زیرا بر اساس مطالعات متعدد مشخص گردید که غشا راسی سلول های غنی از میتوکندری دارای پتانسیل بالا برای عبور یون ها بوده و این گونه تغییرات که در این قسمت های راسی اتفاق می افتد ممکن است به دلیل تغییر در سرعت و میزان جذب یا دفع یون ها بسته به شرایط محیطی ماهی باشد (Moron et al., 2003).

Varsamus و همکاران (۲۰۰۲) با پژوهش بروی MRC های آبشش ماهی باس دریایی (*Dicentrarchus labrax*) به این نتایج دست یافتند که تعداد MRC ها در آب دریا (۳۵ppt) نسبت به آب شیرین (۲ppt) و آبی با شوری دوبرابر آب دریا (۷۰ppt) افزایش معنی داری نشان داد از طرفی مساحت سلول های غنی از میتوکندری در آب دریا افزایش معنی داری نسبت به آب شیرین و سپس آبی با شوری بالاتر آب دریا نشان داد. در بیشتر مطالعات تعداد MRC های گونه های یوری هالین در انتقال از آب شیرین به آب

که بر روی شانک سیاه (*Mylio macrocephalus*) انجام دادند سطح راسی سلول های غنی از میتوکندری در شوری ۵۰-۳۳ ppt را بیشتر از نوع دهانه های عمیق گزارش کردند. در پژوهش Lin و همکاران (۲۰۰۴) بر روی تیلپیا (*Oreochromis mossambicus*) در شوری دریا سطح راسی سلول های غنی از میتوکندری با دهانه های عمیق گزارش گردید. در شوری های ۵ ppt و ۲۰ ppt تراکم دهانه های راسی MRC کمتر از نمونه های کنترل شده بود که با نتایج Movahedinia و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت. مساحت این دهانه ها در شوری ۵ ppt نسبت به بقیه تیمارها بیشتر شد درحالی که مساحت دهانه های سلول های غنی از میتوکندری در شوری ۲۰ ppt در روزهای نخستین از بقیه تیمارها کمتر شده بود که با نتایج Kelly و همکاران (۱۹۹۹) مطابقت داشت و گزارش کردند که در روزهای اولیه و به ویژه در شوری های پایین تر از آب دریا نیاز به املاح مذکور جهت تنظیم اسمزی در ماهی بسیار ضروری به نظر می رسد. Carmona و همکاران (۲۰۰۴) در پژوهش بر روی ماهی خاویاری (*Acipenser naccarii*) مشاهده کردند که سطح راسی سلول های غنی از میتوکندری در ماهیان سازش یافته با آب شیرین نسبت به آب دریا، عمق کمتری دارند. در تحقیق حاضر نیز پس از ۱ روز قرارگیری ماهی در معرض شوری های مختلف محیطی، در شوری های ۵ ppt و ۲۰ ppt سطح راسی MRC ها بیشتر از نوع کم عمق بود که بعد از ۷ روز این روال همچنان وجود داشت در حالی که انواع دهانه های عمیق و برآمده نیز در اپی تلیوم آبشش ماهی صبیتی در سازش با این محیط ها مشاهده شد. به طور مشابهی در پژوهش Lin و همکاران (۲۰۰۴) بر روی تیلپیا (*Oreochromis mossambicus*) در ماهیان سازش یافته با آب شیرین، هر ۳ نوع سلول های غنی از میتوکندری (با دهانه های برآمده، کم عمق و عمیق) در آبشش با اندازه و مرفولوژی متفاوت مشاهده شد. همچنین Kelly و همکاران (۱۹۹۹) با تحقیقی که



گونه‌های دریایی به آب شیرین (Pisam *et al.*, 1990) یا انتقال گونه‌های آب شیرین به آب دریا (Mattheij and Stroband, 1971; Lee *et al.*, 1996) با کاهش در تعداد MRC ها همراه بوده‌است. **تشکر و قدردانی:** نویسندگان این مقاله نهایت سپاس خود را از مسئولان و کارکنان مرکز تحقیقات ماهیان دریایی بندر امام خمینی (ره) اعلام می‌دارند.

chloride cell activity in fugu *Takifugu rubripes* exposed to a hypoosmotic environment. *J.Com.Endocrin.* 149: 285-293.

Lee, T.H., Hwang, P.P., Lin, H.C. and Huang, F.L. 1996. Mitochondria-rich cells in the branchial epithelium of the teleost, *Oreochromis mossambicus*, acclimated to various hypotonic environments. *Fish Physiol.Biochem.*15: 513-523.

Lin, C., Huang, C., Yang, C., Lee, T and Hwang, P. 2004. Time-Course Changes in the Expression of Na, K-ATPase and the Morphometry of Mitochondrion-Rich Cells in Gills of Euryhaline Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) During Freshwater Acclimation. *Journal of Experimental Zoology.* 301:85-96.

Marshall, W.S.2002. Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup> + and Zn<sup>2+</sup> + transport by fish gills: retrospective review and prospective synthesis. *J. Exp. Biol.*293: 264- 283.

Mattheij, J.A.M. and Stroband, H.W.J. 1971. The effects of osmotic experiments and prolactin on the mucous cells in the skin and ionocytes in the gills of the teleost *Cichlasoma biocellatum*. *J. Exp. Biol.*121:93-101.

Moron, S., Oba, E., Andrade, C. and Fernandes, M., 2003. Chloride Cell Responses to Ion Challenge in Two Tropical Freshwater Fish, the Erythrinids *Hoplias malabaricus* and *Hoplerthrinus unitaeniatus*. *J. Exp. Zool.*298: 93-104.

Movahedinia, A.A., Savari, A., Morovvati, H., Koochnin, P., Marammazi, J.G., and Nafisi, M. 2009. The effects of changes in salinity on gill mitochondria-rich cells of juvenile yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*. *J. Biol. Sci.* 9(7): 710- 715.

Perry, S.F. Laurent, P. 1989. Adaptational responses of rainbowtrout to lowered external

دریا افزایش یافته در حالی که حالت بر عکس کمتر اتفاق می‌افتد (Varsamus *et al.*, 2002). افزایش تعداد MRC ها در پی انتقال به شوری‌های بالاتر (در ماهیان یوری‌هالین منتقل شده از آب شیرین به آب دریا) می‌تواند با افزایش نیاز برای توانایی انتقال یونی در آب دریا و یا شوری‌های بالاتر از آب دریا مرتبط باشد. این نتیجه بوسیله Marshall (۲۰۰۲) با مطالعه بر روی یون‌های مختلف دخیل در تنظیم اسمزی در آبشش ماهی به اثبات رسید. هر چند که انتقال بعضی

### منابع

Altinok, I., Galli, S. M. and Chapman, F. A. 1998. Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon, *Acipenser oxyrinchus de sotoi*. *Com. Biochem. Physiol.*120: 609-616.

Carmona, R., GARCIA-Gallego, M. A. Sanz, A. Domezain and Ostos-Garrido, M.V. 2004. Chloride cells and pavement cells in gill epithelia of *Acipenser naccarii*: ultrastructural modifications in seawater-acclimated specimens. *J. Fish. Biol.* 64:553-566.

Chang, I.C., Lee, T. H., Yang, C. H., Wei, Y. Y., Chou, F. I., and Hwang, P. P., 2001: Morphology and Function of Gill Mitochondria-Rich Cells in Fish Acclimated to Different Environments. *Physiol.Biochem. Zool.*74(1): 111-119.

Evans, D.H., Piermarini, P.M. and Cho, K.P. 2005 .The multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *J. Exp.Biol.* 85: 97-177.

Goss, G.G., Laurent, P. and Perry, S.F. 1992. Evidence for a morphological component in acid-base regulation during environmental hypercapnia in the brown bullhead (*Ictalurus nebulosus*). *Cell Tissue Res.* 268:539-552.

Kelly, S. P., Chow, I. N. K. and Woo, N. Y. S. 1999. Haloplasticity of black seabream (*Mylio macrocephalus*): hypersalin of freshwater acclimation. *J. Exp. Zool.*283: 226-241.

Kelly, S. P., Chow, I. N. K. and Woo, N. Y. S. 1999a. Alterations in Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity and gill chloride and cell morphometrics of juvenile black sea bream (*Mylio macrocephalus*) in response to salinity and ration size. *Aquacul.*172: 351-367.

Lee, K. M., Kaneko, T., Katoh, F. and Aida, K. 2006. Prolactin gene expression and gill

- Teng, S. K., El-Zahr, C., Al-Abdul-Elah, K. and Almatar, S. 1999: Pilot –scale spawning and fry production of blue-fin porgy, *Sparidentex hasta* (Valenciennes), in Kuwait. *Aquacul.* 178:27-41.
- Varsamos, S., Diaz, J. P., Charmantier, G., Blasco, C. and Connes, R. 2002. Branchial chloride cells in sea bass (*Dicentraachus labrax*) adapted to fresh water, seawater, and doubly concentrated seawater. *J. Exp. Zool.* 293: 12- 26.
- Wang, P., Lin, C., Hwang, L., Huang, C., Lee, T. and Hwang, P. 2009. Differential responses in gills of euryhaline tilapia, *Oreochromis mossambicus*, to various hyperosmotic shocks. *Com.Biochem. Physiol.* 152: 544–551.
- NaCl concentration: Contribution of the branchial chloride cell. *J. Exp. Biol.* 147: 147-168.
- Pisam, M., Boeuf, G., Prunet, P. and Rambourg, A. 1990. Ultrastructural features of mitochondria-rich cells in stenohaline freshwater and seawater fishes. *J. Exp. Biol.* 187:21-31.
- Platell, M.E., Ang, H.P., Hesp, S.A., Potter, I.C., 2007. Comparisons between the influences of habitat, body size and season on the dietary composition of the sparid *Acanthopagrus latus* in a large marine embayment. *Estuar. Coasta. Shelf. Sci.* 72 :626-634

**Morphological changes of mitochondria-rich cells in gill of *Sparidentex hasta* during adaptation to different environmental salinities by scanning electron microscopy**

Papi H, Abdi R\*, Movahedinia A

Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Science and Technology

**Abstract**

To determine the cellular and adaptations changes in mitochondria-rich cells under different salinities, *Sparidentex hasta* as a urihaline has been studied. 180 fish weighing  $150 \pm 0.5$  gr and  $23 \pm 1$  cm length, were directly exposed to (5, 20, 40 and 60 ppt) salinities for a week. Sampling was performed on days 1, 2 and 7 and three fish from each tank (12 fish from each treatment) were sampled each time. Samples were fixed in glutaraldehyde 2/5 % solution and washed with 0.1M (pH=7.4) buffer phosphate. Samples were dehydrated in increasing ethanol series (from 50 % to pure ethanol) followed by 100 % acetone. Tissue blocks were frozen by liquid nitrogen and then immediately followed by scanning electron microscope LEO (Model 1455VP) with 15Kv voltage. Scanning electron microscope revealed three types of mitochondria-rich cells with derived apertures, shallow and deep apical openings. The number and size of mitochondria-rich cells in the apical openings in 60ppt salinity increased on the first day compared to rest of the treatments. During the experiment, the density and size of the openings in the mitochondria-rich cells in the lower salinity increased but in higher salinity of sea water size and density of openings decreased during experiment.

**Keywords:** Mitochondria-rich cells, Scanning electron microscopy, *Sparidentex hasta*, salinity

---

\*Corresponding author, E-mail: abdir@kmsu.ac.ir